

Foto: José Dalton Cruz Pessoa



Efeito da Temperatura nas Antocianinas do Açaí

Tatiane Regina Albarici¹
Alexandre da Cruz Valeta²
José Dalton Cruz Pessoa³

O açaizeiro (gênero *Euterpe*) é uma palmeira amplamente distribuída na área original da Mata Atlântica. Na floresta tropical da Região Norte está sendo explorado especialmente no Pará, Amapá, Acre e Maranhão. Nestes estados é explorado principalmente por extrativismo pelos caboclos como fonte de alimento, fibra para manufatura e madeira (MELO et al., 1974; ROGEZ, 2000).

O açaí é a fruta mais importante produzida no nordeste do Pará. A Secretaria da Agricultura do Estado do Pará estima que a produção em 2004 alcançou 350 mil toneladas de frutos, que é 35 % mais que em 2003. Particularmente na cidade de Belém, o consumo deve estar entre 120 e 180 mil litros por dia. Nas outras regiões do Brasil a demanda pelo açaí está em alta, gerando impostos principalmente no Rio de Janeiro, São Paulo, Brasília, Goiás e na Região Nordeste. Em 2000, foi iniciada a exportação de polpa congelada de açaí para os Estados Unidos e para a Itália. Estima-se que em 2003 foram comercializados por volta de US\$ 2,12 milhões, e em 2005 pelo menos US\$ 5,49 milhões correspondendo a aproximadamente 2 a 3 mil toneladas da bebida (SANTANA, 2006).

Um ponto crítico do comércio do açaí é a sua alta perecibilidade, mesmo sob refrigeração. A polpa não se conserva por mais de 12 horas em geladeira, pois notam-se alterações na cor passando de violácea para marrom. A cor característica do açaí está relacionada à alta concentração de antocianinas no fruto (ROGEZ, 2000). As antocianinas são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas, em frutas, flores e folhas, que variam do vermelho ao azul (BOBBIO et al., 2000). São pigmentos muito instáveis que podem ser degradados durante o processamento e a estocagem da matriz onde estão

inseridos, com conseqüente alteração da cor e poder antioxidante.

Além do controle de qualidade da cor nos alimentos, a medida das antocianinas totais é interessante uma vez que estes compostos mostraram possuir atividades benéficas à saúde humana. As principais bioatividades das antocianinas são suas atividades antioxidantes e anti-radicalares (COISSON et al., 2005). Além disso, reconhecem-se as mesmas propriedades vasotônicas, vaso protetoras, aumentando a resistência dos capilares sanguíneos, anti-trômbricas, ao impedir a agregação de plaquetas e antineoplásticos, podendo estar correlacionada ao poder antioxidante, encontrado nos flavonóides (WANG et al., 1997; DA SILVA, 2002). Recentemente foi demonstrado por Bianchi et al. (1997) a inibição da peroxidação lipídica em células *in vivo* pelas antocianinas.

Estes pigmentos são uma alternativa viável para a substituição de corantes sintéticos devido a seu grande número de conjugações, cores atrativas e sua solubilidade em água o que permite sua incorporação em uma grande variedade de produtos alimentícios (POZO-INSFRAN et al., 2004). Porém, o uso de extratos antociânicos como corantes naturais também é limitado em decorrência da grande instabilidade desses compostos a fatores abióticos, dentre os quais se destacam a luz e a temperatura (LIMA et al., 2002; LIMA et al., 2005).

Os métodos espectroscópicos vêm sendo utilizados para calcular a concentração total de antocianinas em sucos de frutas e em flores (FULEKI e FRANCIS, 1968; MARÇO et al., 2005; RAPISARDA et al., 2000; MALACRIDA e MOTTA, 2005; MOTA, 2006), estes métodos se mostraram confiáveis quando

¹Química, Dra., pós-doutoranda na Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, São Carlos - SP, CEP 13560-970, tatiane@cnpdia.embrapa.br;

²Graduando em química, estagiário na Embrapa Instrumentação, alexandrevaleta@ig.com.br;

³Físico, Dr., pesquisador na Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, São Carlos - SP, CEP 13560-970, dalton@cnpdia.embrapa.br;

comparados com análises em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (RAPISARDA et al., 2000). O método do pH diferencial leva em consideração as transformações estruturais das antocianinas em função do pH. Este método é muito útil para medidas de estabilidade e medidas quantitativas (FULEKI e FRANCIS, 1968; GIUST e WROLSTAD, 2001).

Neste trabalho o efeito da temperatura na degradação das antocianinas de açaí foi analisada utilizando o método do pH diferencial, com o objetivo de entender a estabilidade destes compostos na polpa em diferentes temperaturas.

Procedimento Experimental

Neste trabalho foi utilizada a polpa de açaí liofilizada. Foram pesadas 15,050g de polpa e foi feita a extração com 300 mL de água destilada durante 30 minutos, filtrou-se e o filtrado foi diluído a 500mL. Esta solução foi dividida em três partes iguais, armazenadas nas três temperaturas diferentes 0°C, temperatura ambiente (25°C) e 40°C, os frascos armazenados foram vedados com rolhas de borracha para evitar evaporação do solvente, o qual influenciaria diretamente na concentração da amostra. Em tempos regulares foram coletadas alíquotas das amostras e colocadas imediatamente em tubos de ensaio envolvidos em banho de gelo para interromper a reação de degradação até o momento da análise. Foi adicionado 2ml de cada alíquota em dois balões volumétricos de 10 mL. O primeiro balão foi completado com solução tampão pH 1,0 (HCl/KCl) e o segundo balão com solução tampão pH 4,5 (HCl/CH₃COONa).

As amostras permaneceram estocadas durante 20 minutos para atingir o equilíbrio. Após o equilíbrio foi obtido o espectro de absorvância utilizando um espectrofotômetro UV-Vis 1650 Shimadzu duplo feixe com velocidade de varredura de 320 nm/min em uma cela de quartzo (d = 1 cm), utilizando água destilada como branco. A concentração das antocianinas totais foi calculada através da seguinte fórmula:

$$C \text{ (mg/L)} = [(A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}] \times \text{MM} \times \text{DF} \times 1000 \times ??^{??}$$

Onde a diferença dos valores de absorvidade em pH 1,0 e pH 4,5 é diretamente proporcional à concentração de antocianinas com o cálculo baseado na cyanidina-3-glucosídeo, antocianina predominante na amostra, com massa molecular de 449,2 g/mol e absorvidade molar de 26.900 (GIUST e WROLSTAD, 2001). O fator de diluição (DF) é calculado dividindo o volume final da solução após a adição do tampão pelo volume da alíquota de amostra, no caso 10ml / 2mL, sendo o fator de diluição utilizado igual a 5. A absorvância máxima ($A_{\lambda \text{ vis-max}}$) foi encontrada obtendo-se o espectro da polpa em pH 1.

Depois de encontrada a concentração das antocianinas por litro de solução, foram feitos os cálculos necessários para encontrar a concentração de antocianinas por cada 100 gramas de polpa liofilizada.

Resultados e Discussões

A concentração inicial das antocianinas totais, calculada através do método de pH diferencial, foi de 92,8mg/100g de polpa liofilizada e o comprimento de onda de absorção máxima encontrado foi de 514nm.

A solução para os testes de degradação foi preparada com a adição de água, o tampão foi adicionado apenas no momento das leituras no espectrofotômetro para que não houvesse interferências, ou seja, aumento da estabilidade das antocianinas com a diminuição do pH do meio.

Após o armazenamento nas três temperaturas escolhidas para o teste de degradação das antocianinas (0°C, 25°C e 40°C) foi obtido o gráfico de concentração de antocianinas pelo tempo de armazenamento (Fig. 1). Todas as concentrações foram encontradas pelo método do pH diferencial.

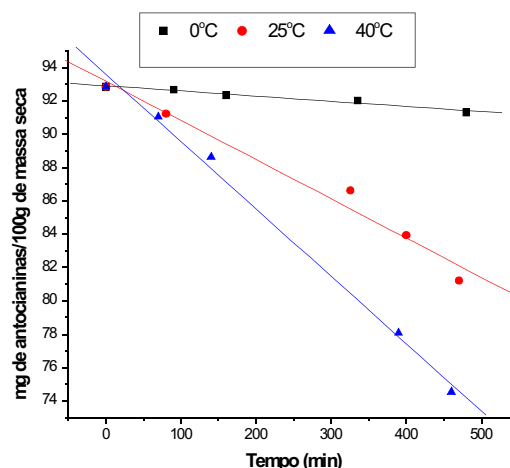


Fig. 1- Gráfico da variação na concentração das antocianinas totais por tempo de exposição a 0°C, 25°C e 40°C.

A Figura 1 mostra que a concentração das antocianinas decresce com o tempo, nas três temperaturas a que as soluções foram submetidas. Pelo gráfico pode-se observar também que a degradação segue uma cinética de primeira ordem, ou seja, a concentração das antocianinas decresce linearmente com o tempo de armazenamento. Sabe-se que as reações de primeira ordem seguem a seguinte equação:

$$\ln C_t = -kt + \ln C_0$$

onde:

k é a constante de velocidade da reação

C₀ é a concentração inicial das antocianinas

C_t é a concentração das antocianinas após t minutos de armazenamento

Portanto o gráfico de $\ln C_t$ por tempo nos dá uma reta onde a inclinação é k. Os valores de constante de reação permitem o cálculo de tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das antocianinas, ou seja, o tempo necessário para que a concentração das antocianinas diminua a metade do seu valor inicial, que é calculado pela seguinte equação:

$$t_{1/2} = -\ln 0,5 \times k^{-1}$$

Os valores de k e de $t_{1/2}$ estão representados na tabela 1.

Tabela 1: Dados cinéticos da reação de degradação do açaí.

T (°C)	k/min ⁻¹	t _{1/2} (horas)
0	0,34x10 ⁻⁴	343,8
25	2,69x10 ⁻⁴	42,9
40	4,84 x10 ⁻⁴	23,9

Em todas as temperaturas escolhidas a degradação das antocianinas é observada. Como esperado, os parâmetros cinéticos mostram que quanto maior a temperatura de armazenamento mais rápida a velocidade da reação. A constante de velocidade da reação a 25°C é quase 8 vezes maior que a constante a 0°C enquanto a constante a 40°C é 14 vezes maior. Analisando o tempo de meia vida observa-se que a 40°C, em menos de 1 dia a concentração de antocianinas diminui a metade do valor inicial enquanto que a 25°C isso acontece em menos de 2 dias. A 0°C também foi observada a degradação e o tempo de meia vida é encontrado foi de 14 dias o que mostra que nesta temperatura a conservação das antocianinas é mais efetiva.

Conclusão

A temperatura de processamento do fruto e armazenamento da bebida é uma variável importante para a manutenção dos teores de antocianinas na bebida. A partir dos resultados aqui apresentados sugere-se que seja dada especial atenção para a cadeia de frio.

Referências

- BIANCHI, L.; COLIVICCHI, M. A.; CORTE, L. C.; VALOTI, M.; SGARAGLI, G. P.; BECHI, P. Measurement of synthetic phenolic antioxidants in human tissues by high-performance liquid chromatography with coulometric electrochemical detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, Amsterdam, v. 694, n. 2, p. 359-365, 1997.
- BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 388-390, 2000.
- COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G. et al. Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, Barking, n. 38, p. 893-897, 2005.
- DA SILVA, E. M. **Otimização de Métodos de Análise de Antocianinas: Poder Antioxidante e Quantificação Rápida**. 2002. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Pará, Belém.
- FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total Anthocyanin and degradation Index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, p. 78-83, 1968.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. Unit. F1.2.1-13.
- LIMA, V. L.; MELO, E.; LIMA, D. Polpa Congelada de Acerola: Efeito da Temperatura Sobre os Teores de Antocianinas e Flavonóis Totais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, BA, v. 24, 2002.
- LIMA, V. L.; MELO, E.; LIMA, D. Efeito da luz e da Temperatura de Congelamento sobre a Estabilidade das Antocianinas da Pitanga Roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, 2005.
- MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 659-664, 2005.
- MARÇO, P. H.; LEVI, M. A. B.; SCARMINIO, I. S.; POPPI, R. J.; TREVISAN, M. G. Exploratory Analysis of Simultaneous Degradation of Anthocyanins in the Calyces of Flowers of *Hibiscus sadbariffa* Species by PARAFAC Model. **Analytical Sciences**, Tokyo, v. 21, p. 1523-1527, 2005.
- MELO, C. F. M.; WISNIEWSKI, A.; ALVES, S. M. Possibilidades papelarias do açaizeiro. **Boletim Técnico do IPEAN**, Belém, v.63, p. 1-34, 1974.
- MOTA, R. V. Caracterização do suco de amora preta elaborado em extrator caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 303-308, 2006.
- POZO-INSFRAN, D. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, 2004.
- RAPISARDA, P.; FANELLA, F.; Macarone, E. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in Blood Orange Juices. **Journal of agricultural and food chemistry**, Easton, v. 48, p. 2249-2252, 2000.
- ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: EDUFPA, 2000.
- SANTANA, A. C. de. **Dinâmica espacial da produção rural do Estado do Pará: referências para o desenvolvimento sustentável**. Belém: UFPA, 2006. (Série Acadêmica, 02).
- WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. **Journal of agricultural and food chemistry**, Easton, v. 45, n. 2, p. 304-309, 1997.

Comunicado Técnico, 86

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 3374 2477
Fax: 16 3372 5958
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
www.cnpdia.embrapa.br

1a. edição
1a. impressão 2007: tiragem 300

Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

R revisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Valentim Monzane